

483-488

无尾目, 树蛙科, 细胞遗传学

6834(11)

动物学研究 1996, 17 (4): 483-488

CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853

Zoological Research

云南四种树蛙的细胞遗传学研究*

(无尾目: 树蛙科)

李树深

胡健生

(云南大学生物学系 昆明 650091)

Q959.530.3

A

摘要 本文报道了分布在云南的4种树蛙(峨眉泛树蛙、黑点泛树蛙、无声囊泛树蛙和棕褶树蛙)的核型、C-带及Ag-NORs。它们具有相同的二倍体数($2n=26$),除无声囊泛树蛙是6+7,其余均为5+8核型模式,种间SM的数目和顺序、次缢痕和Ag-NORs相互间有所差异。黑点泛树蛙 Nos. 3, 12 为 SM, Ag-NORs 位于 $10p^{inter}$; 峨眉泛树蛙 Nos. 2, 3, 4, 6, 9 为 SM, 随体和 Ag-NORs 在 $12q^{ter}$; 无声囊泛树蛙无 SM, Ag-NORs 在 $6q^{inter}$; 棕褶树蛙 Nos. 2, 3, 4 为 SM, Ag-NORs 2 对, 分布在 $12q^{ter}$ 和 $13q^{ter}$, 还观察到随体联合现象。4 个种的 C-带正染主要在着丝点区域, 次缢痕和 Ag-NORs 位置均为阴性反应。

关键词 核型, C-带, Ag-NORs, 树蛙, 云南

树蛙科无尾两栖类是一群适应于树栖生活的特化类群,可能源于蛙科(Ranidae),分布在东南亚及非洲南部的热带亚热带地区,约10属180种左右。在我国主要栖息于秦岭以南各省(区),约6属40余种(Duellman等,1985;费梁等,1990)。Schmid(1987,1980)、Kuramoto(1977)、Kuramoto等(1987,1992)、Blommers-Schlösser(1987)等曾对分布在非洲南部、马达加斯加岛、东南亚等地的树蛙作过核型和带型研究,其中Schmid(1978,1980)对非洲南部的 *Chinromantis xerampelina* 进行了深入的带型分析(包括C-带、Ag-NORs以及异质碱基荧光带)。李炳华等(1983)、高健民等(1985)、何海晏(1986)、谭安鸣等(1987)、郭超文等(1992)对我国大陆的斑腿泛树蛙、大泛树蛙以及经甫泛树蛙等进行了有关研究,Kuramoto(1985)还对台湾产2种树蛙作了核型报道。本文所列黑点泛树蛙、峨眉泛树蛙、无声囊泛树蛙和棕褶树蛙未见报道。

1 材料与方法

黑点泛树蛙 [*Polypedates nigropunctatus* (Lin, Hu et Yang)] 4♂♂,峨眉泛树蛙 [*P. omeimontis* (Stejneger)] 9♂♂、1♀,棕褶树蛙 [*Rhacophorus fae* (Boulenger)] 10♂♂、6♀♀,分别于1992年4月和10月采自云南屏边县。无声囊泛树蛙 [*P. mutus* (Smith)] 12♂♂、1♀,1994年6月采自云南勐腊县。染色体玻片标本采用长骨骨

* 国家自然科学基金项目

本文1995年8月9日收到,同年10月24日修回

髓细胞蒸汽固定法(李树深等, 1991), 染色体着丝点位置按 Levan (1964) 标准划分, C-带沿用 BSG 法 (Sumner, 1972), NORs 银染按 Howell 和 Black (1980) 法进行。

2 结果

黑点泛树蛙(图 1: a, b, c) $2n=26$ (22M+4SM), 5+8, NF=52, 除 Nos. 3, 12 两对为 SM, No. 9 间或为 SM 外, 其余各对均为 M, 次缢痕(SC)位于 $10p^{inter*}$, 频率为 40% Ag-NORs 亦位于相同的位置。C-带阳性主要在各染色体的着丝点区域, 即 c-型 C-带为主, 间或在 $2q^{ter}$, $4q^{ter}$ 和 $6q^{per}$ 也出现阳性反应。而 Ag-NORs 区域无 C-带阳性。

峨眉泛树蛙(图 1: d, e, f) $2n=26$ (16M+10SM), 5+8, NF=52, 除 Nos. 2, 3, 4, 6, 9 等 5 对为 SM 外, 余者均为 M, 随体 1 对位于 $12q^{ter}$, 出现率为 100%, 且有异形现象, Ag-NORs 亦位于 $12q^{ter}$ 。C-带以 c-型为主。

无声囊泛树蛙(图 1: j, k, l) $2n=62$ M, 某些分裂相偶见 Nos. 3, 12 为 SM, 次缢痕位于 $6q^{inter}$, Ag-NORs 在同一位置, 但在少数分裂相中可见着丝点区域的小银染。C-带主要在基因组的全部着丝点区域。

棕褶树蛙(图 1: g, h, i) $2n=26$ (20M+6SM), 5+8, NF=52, 除 Nos. 2, 3, 4 等 3 对为 SM, 余者为 M, 常规核型通常仅出现 1 对随体, 位于 $13q^{ter}$, 频率仅为 20%, Ag-NORs 2 对, 分别位于 $12q^{ter}$ 和 $13q^{ter}$ 。以 c-型 C-带为主, 间或在 $2q^{ter}$, $4q^{ter}$ 和 $6q^{per}$ 也有。

还发现有随体联合(satellite association)。

3 讨论

3.1 树蛙科 10 属中有 7 属分布于东亚和东南亚, 2 属 (*Aglyptodactylus* 和 *Boophis*) 是马达加斯加岛特有的, 非洲大陆南部只有 1 属 (*Chiromantis*)。Schmid (1978, 1980) 对非洲南部的 *Chiromantis xerampelina* 作过深入的核带型研究, Blommers-Schlösser (1978) 则对马达加斯加岛的土著属种 *Boophis* 作了核型报道。而日本人 Kuramoto 等 (1977, 1985, 1987, 1992) 对分布在东亚、东南亚和我国台湾省的树蛙作过核型研究, 包括泛树蛙属、跳树蛙属、溪树蛙属和树蛙属的一些种类。国内李炳华等 (1983) 对安徽黄山的、何海晏 (1986) 对广东的斑腿泛树蛙, 郭超文等 (1992) 对安徽黄山的斑腿泛树蛙、大泛树蛙, 高健民等 (1985) 对福建的大泛树蛙, 杨文明等 (1986) 对云南的贡山泛树蛙, 谭安鸣等 (1987) 对四川峨眉山的经甫泛树蛙等进行了核型、带型分析。Tan (1987) 还报道了背条跳树蛙 (*Chrixalus doriae*) 的二倍体数有 26 和 16 两种类型。除此之外, 已知树蛙科各属的种包括本文所列 3 个种, 其二倍体均为 26, 且核型模式为 5+8 或 6+7, NF=52, 即为双臂染色体所组成。这种核型是很特化的, 在无尾两栖类的高等类群, 例如蛙科、姬蛙科等都具有类似的核型, 从染色体数目来说是很保守的, 在类群分化中不易发生变化。确切地说, 在核型演化中罗伯逊现象将不占主要地位。

3.2 本文所涉 3 种泛树蛙与国内已报道的 4 种泛树蛙相比, 除无声囊泛树蛙的核型模式

* p: 短臂; q: 长臂; ter(terminal): 端部; inter(interstital): 居间区; per(pericentric): 近着丝点区域。

表 1 四种树蛙的核型数据 ($M \pm SE$)
Tab.1 The karyotype data of four tree-frogs

No	黑点泛树蛙 <i>Polypedates nigropunctatus</i>			峨眉泛树蛙 <i>P. omeimontus</i>			无声囊泛树蛙 <i>P. mutus</i>			棕褶树蛙 <i>Rhacophorus fusc</i>		
	RL	AR	LC	RL	AR	LC	RL	AR	LC	RL	AR	LC
1	13.75±0.20	1.49±0.04	M	14.54±0.18	1.55±0.03	M	13.21±0.21	1.19±0.02	M	14.15±0.16	1.62±0.04	M
2	12.05±0.17	1.51±0.06	M	13.20±0.24	1.98±0.05	SM	11.33±0.13	1.58±0.02	M	11.81±0.15	1.70±0.04	SM
3	11.05±0.22	1.73±0.05	SM	11.45±0.08	1.87±0.03	SM	10.71±0.14	1.65±0.03	M or SM	11.33±0.12	1.71±0.05	SM
4	10.60±0.23	1.49±0.04	M	10.99±0.14	1.83±0.06	SM	10.31±0.11	1.36±0.04	M	10.57±0.18	1.77±0.05	SM
5	9.81±0.08	1.34±0.05	M	9.32±0.12	1.35±0.04	M	9.37±0.06	1.24±0.03	M	9.08±0.14	1.37±0.05	M
6	7.05±0.07	1.27±0.09	M	6.19±0.10	1.81±0.05	SM	8.11±0.10	1.22±0.02	M	6.77±0.08	1.44±0.04	M
7	6.64±0.10	1.30±0.04	M	5.96±0.07	1.42±0.06	M	6.64±0.13	1.17±0.03	M	6.21±0.07	1.45±0.06	M
8	5.86±0.13	1.49±0.06	M	5.51±0.11	1.32±0.06	M	5.46±0.07	1.31±0.03	M	5.83±0.12	1.49±0.05	M
9	5.63±0.05	1.63±0.05	M or SM	5.37±0.13	1.80±0.08	SM	5.29±0.12	1.28±0.05	M	5.54±0.06	1.54±0.03	M
10	4.68±0.11	1.41±0.06	M	4.84±0.08	1.46±0.04	M	4.98±0.05	1.18±0.06	M	5.04±0.08	1.54±0.06	M
11	4.50±0.09	1.40±0.04	M	4.71±0.06	1.36±0.08	M	4.97±0.05	1.18±0.03	M	4.94±0.10	1.52±0.04	M
12	4.44±0.05	1.72±0.05	SM	4.11±0.07	1.18±0.05	M	4.42±0.16	1.66±0.03	M or SM	4.64±0.10	1.48±0.04	M
13	3.95±0.07	1.13±0.03	M	3.79±0.04	1.13±0.02	M	4.26±0.07	1.18±0.02	M	4.10±0.09	1.49±0.04	M

RL: (Relative length) 相对长度; AR: (Arm ratio) 臂比值; LC: (Location of centromere) 着丝点位置

为 6+7 外, 其余几种在 2n、NF、核型模式都是相同的, 但在 SM 的数目和顺序、次缢痕或随体的位置、Ag-NORs 和 C-带等都有一定差异。但是斑腿泛树蛙中不同分布区标本的实验结果有差异, 何海晏 (1986) 报道广东的、李炳华等 (1983) 报道安徽黄山的标本为 6+7 模式, SC 在 $6q^{inter}$, 可是郭超文等 (1992) 却报道黄山标本为 5+8 模式, $10q^{inter}$ Ag-NORs (表 2)。可见泛树蛙属内的种间分化主要是含有异染色质片段的相互易位和臂间倒位。

表 2 我国已知泛树蛙种的核型比较

Tab.2 The comparion of karyotypes among known Chinese *Polypedates* species

种 名	2n	模 式	组 成	SC	NOR	作 者
斑腿泛树蛙 (<i>P. leucomystax</i>)	26	5+8		$10q^{inter}$	$10q^{inter}$	郭超文等 (1989,1992)
		6+7	20M+6SM (2.10.12)	6q		李炳华等 (1983)
		6+7	22M+4SM (2.13)	1.2.5. 6 9q		何海晏 (1986)
大泛树蛙 (<i>P. dennisi</i>)	26	5+8	18M+8SM (3.6.10.12)	$9p^{per}$ $7q^{ter}$ $10q^{ter}$		高健民等 (1985)
		5+8			$7q^{inter}$ $10q^{ter}$	郭超文等 (1992)
经甫泛树蛙 (<i>P. chen-fui</i>)	26	5+8	14M+12SM (2.3.6.11 12.13)	$11q^{ter}$	$11q^{ter}$	谭安鸣等 (1987)
贡山泛树蛙 (<i>P. gonshanensis</i>)	26	5+8	20M+6SM (2.3 13)			杨文明等 (1986)
黑点泛树蛙 (<i>P. nigropunctatus</i>)	26	5+8	22M+4SM (3.12)	$10p^{inter}$	$10p^{inter}$	本 文
峨眉泛树蛙 (<i>P. omeimontis</i>)	26	5+8	16M+10SM (2 3.4.6 9)	$12q^{ter}$	$12q^{ter}$	本 文
无声囊泛树蛙 (<i>P. mutus</i>)	26	6+7	26M	$6q^{inter}$	$6q^{inter}$	本 文

3.3 从表 2 可知我国泛树蛙的核型模式, 有两个类型, 即 6+7 和 5+8, 其中无声囊泛树蛙和斑腿泛树蛙 (除安徽种群外) 为 6+7, 其余诸种均为 5+8。而不同属的棕褶树蛙和黑蹼树蛙的模式也是 5+8。这种情况在 $2n=26$ 的无尾两栖动物中不乏其例, 例如锄足蟾科的角蟾属 (*Megophrys*) 这就是同属种间的核型模式的分异和不同属种间的趋同。仅就这样一个孤立的特征 (性状) 是很难提供可靠的演化信息的。一般认为核型模式是从 6+7 发展为 5+8 的 (Morescalchi 等, 1977)。因此, 上述不同属种间的相同模式很可能是一种核型趋同演化的结果。

在泛树蛙属中, 具有 6+7 模式的 2 个种, 指间均有不同程度的指蹼; 而 5+8 者不显示指间蹼。

3.4 中国大陆产的树蛙属 (*Rhacophorus*) 尚不见细胞遗传学研究, Kuramoto (1985) 对我国台湾的 2 种树蛙 (*Rh. taipeianus*, *Rh. moltrechti*) 也只做了核型研究。本文报道的

棕褶树蛙在 2 倍体数和核型模式与之相间。但是在银染方面却很为特殊,它具有两对 Ag-NORs。在树蛙科中具有两对 Ag-NORs 的国外只见于非洲南部的 *Chiromantis xerampelina*, 也出现在 12q^{ter} 和 13q^{ter} 上, 荧光染色表明有光神霉素 (M⁺) 的强荧光, 证明该区为富 AT 异染色质区 (Schmid, 1978, 1980)。国内郭超文等 (1992) 报道安徽黄山的大泛树蛙也有两对 Ag-NORs, 分别位于 7q^{inter} 和 10q^{ter}。绝大部分已经银染研究的无尾两栖动物 (约 300 种左右) 的 NOR 仅有 1 对, 无论是低等的或高等的无尾类, 均为如此。因此, 被视为一种原始性状。但是在各个分类群中, 也有少数种类, 具有多于 1 对的 NOR, 如雨蛙科的 *Litoria raniformis* (King 等, 1990), 锄足蟾科中的沙坪角蟾 (李树深等, 待刊), 细趾蟾科的 *Odontophrynus americanus* (Ruiz 等, 1984), 树蛙科的 *Chiromantis xerampelina* (Schmid, 1987) 和棕褶树蛙 (本文) 等。不仅如此, 同种的不同地理种群, 有时也存在着 NOR 对数的变异。所以, NOR 对数从总的情况而言, 是由少向多发展, 因此, 棕褶树蛙的两对 NOR 的出现是一种特化的表现, 但这并不意味着它与分布在非洲南部的 *C. xerampelina* 之间有着比同属其他仅有 1 对 NOR 的树蛙, 有更密切的亲缘关系。这是因为 NOR 数目的变化在无尾栖类中, 在有关类元中是独立完成的, 是一种趋同现象。至于随体联合现象, 在树蛙科中未见报道, 但我们在锄足蟾科的掌突蟾中曾观察到 (李树深等, 1991)。

参 考 文 献

- 李树深, 费 梁, 叶昌媛, 1991. 云南三种齿蟾的细胞遗传学研究. 动物学报, 37 (2): 216—223.
 李树深, 费 梁, 叶昌媛, 1991. 中国两种掌突蟾的细胞遗传学研究. 遗传学报, 18 (6): 495—499.
 李炳华, 陈习中, 1983. 斑腿树蛙染色体组型分析. 动物学报, 29 (3): 293—294.
 何海晏, 1986. 广东九种无尾类染色体组型比较研究. 两栖爬行动物学报, 5 (3): 171—175.
 高健民, 耿宝荣, 陈 欣, 1985. 大树蛙的染色体组型及 C-带带型分析. 两栖爬行动物学报, 4 (1): 1—4.
 郭超文, 董永文, 1992. 十一种无尾两栖类分带核型的比较研究. 遗传, 14 (4): 29—32.
 杨文明, 吴贯夫, 1986. 贡山树蛙的染色体组型研究. 两栖爬行动物学报, 5 (3): 225—226.
 费 梁, 叶昌媛, 黄永昭, 1990. 中国两栖动物检索. 中国科技情报出版社重庆分社.
 谭安鸣, 赵尔宏, 吴政安, 1987. 经甫树蛙的染色体组型、C-带和 Ag-NORs 的研究. 动物学报, 33 (2): 105—109.
 Blommers-Schlösser R M A, 1978. Cytotaxonomy of Ranidae, Rhacophoridae, Hyperoliidae (Anura) from Madagascar with a note on the karyotype of two amphibians of Seychelles. *Genetica*, 48: 23—40.
 Duellman W, Trueb L, 1985. Biology of amphibians. New York, McGraw-Hill Book Company.
 Howell W M, Black D A, 1980. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 36: 1014—1015.
 King M N Contreras, Honeycutt R L, 1990. Variation within and between nucleolar organizer regions in Australian hylid frogs (Anura) shown by 18S+28S in-situ hybridization. *Genetica*, 80: 17—29.
 Kuramoto M, 1977. A comparative study of karyotypes in the tree frogs (Family Rhacophoridae) from Japan and Taiwan. *Caryologia*, 30(3): 333—342.
 Kuramoto M, 1985. Karyotypes of two Taiwan rhacophorid frogs, *Rhacophorus taipeianus* and *Rh. moltrichti*. *Bull. Inst. Zool. Academia Sinica*.
 Kuramoto M, Wang C S, 1987. A new rhacophorid tree frog from Taiwan, with comparisons to *Chirixalus eiffingeri* (Anura, Rhacophoridae). *Copeia*, 4: 931—942.
 Kuramoto M, Hoi-sen Yong, 1992. Karyotypes of several frogs species from Peninsular Malaysia. *Herpetologica*.

- 48(4): 434-438.
- Morescalchi, Olmo A E, Stingo V, 1977. Trends of karyological evolution in pelobatid frogs. *Experientia*, 33: 1577-1578.
- Ruiz I R G, Almeida T M B de, Becak W, 1984. Active nucleolar-organizer regions in polyploid populations of *Odontophrynus americanus* (Amphibia, Anura) from South Brazil. *Genetica*, 63: 31-37.
- Schmid M, 1978. Chromosome banding in Amphibia. II. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in Ranidae, Microhylidae and Rhacophoridae. *Chromosoma*, 68: 131-148.
- Schmid M, 1980. Chromosome banding in Amphibia, IV. Differentiation of GC- and AT-rich chromosome regions in Anura. *Chromosoma*, 77: 83-103.
- Sumner A T, 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell. Res.*, 75: 304-306.
- Tan A M, 1987. A rare case of karyotype in Anura—a preliminary study on the karyotype of *Phyllaudus dorsalis* (Boulenger) with different numbers. *Chinese Herpetol. Res.*, 1987: 12-16.

STUDIES ON THE CYTOGENETICS OF FOUR RHACOPHORID TREE FROGS FROM YUNNAN

Li Shushen

Hu Jiansheng

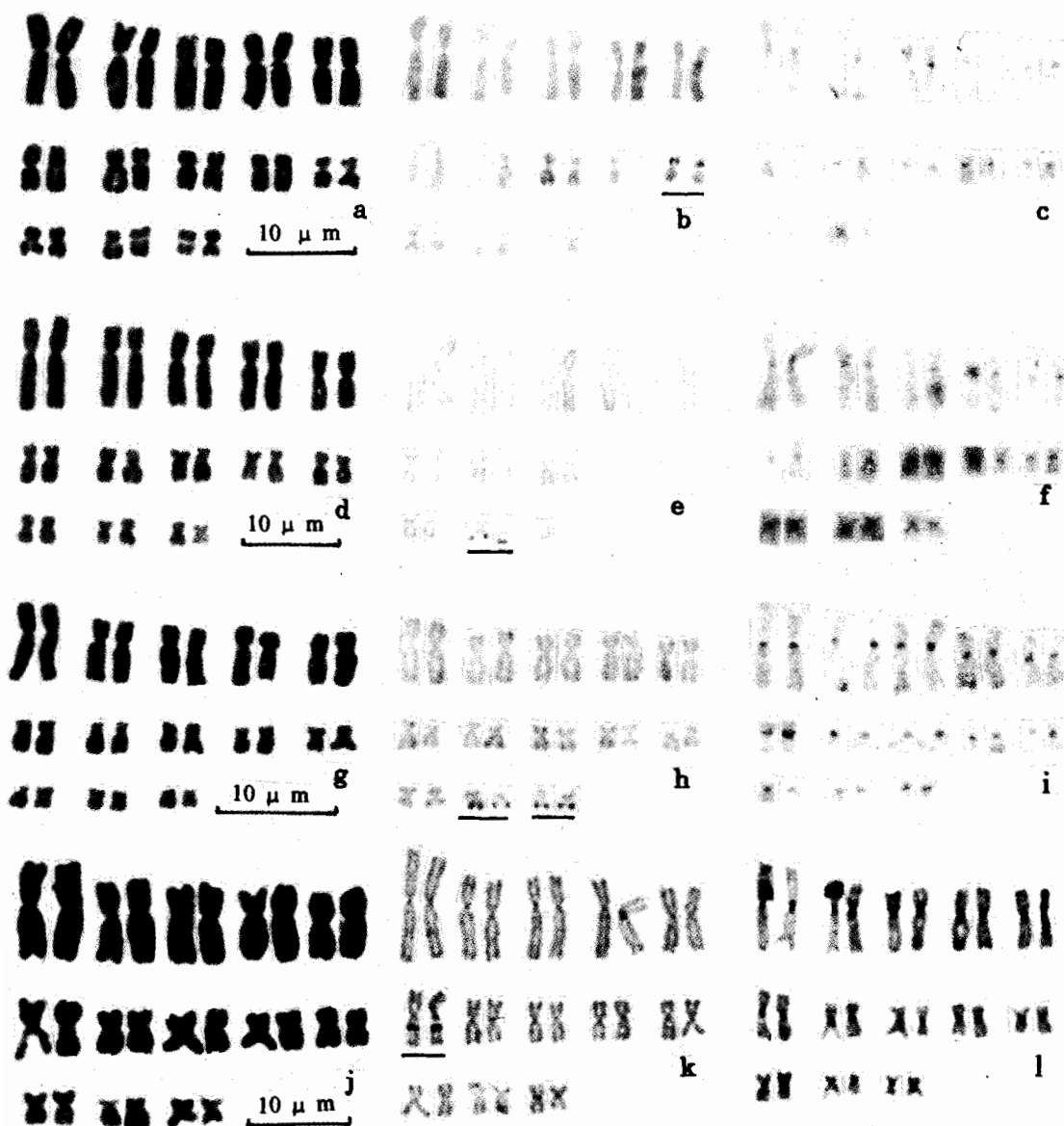
(Department of Biology, Yunnan University, Kunming, 650091)

Abstract

The conventional karyotype, C-banding and Ag-NORs of four rhacophorid tree frog species (Those are *Polypedates nigropunctatus*, *P. omeimontis*, *P. mutus* and *Rhacophorus feae*) from Yunnan Province have been studied using the bone marrow preparing chromosome. Results showed that the same diploid number ($2n=26$) and karyotypic formulae they have, except for *P. mutus* that have $6+7$ formulae, but the number and sequence of the submetacentric chromosome, secondary constriction (SC) or the satellite and Ag-NORs are different each other. In *P. nigropunctatus* Nos. 3, 12 are SM, Ag-NORs and SC localized on $10p^{inter}$. Nos. 2, 3, 4, 6, 9 are SM and the satellite, Ag-NORs are on $12q^{ter}$ in *P. omeimontis*, without SM and on $6q^{inter}$ of Ag-NORs in *P. mutus*, but in *Rhacophorus feae* the Nos. 2, 3, 4 are SM, and two pairs Ag-NORs appeared on $12q^{ter}$ and $13q^{ter}$. Meantimes the satellite association was found. All these species in which the C-positive mainly are on the centromeric regions of all chromosomes and the C-negative reaction always appeared on SC or Ag-NORs locations. Finally the possible mechanism of karyotypic change among them have been discussed.

Key words Karyotype, C-banding, Ag-NORs, Rhacophorid frog, Yunnan

李树深等：云南四种树蛙的细胞遗传学研究 图版 I
 Li Shushen *et al.*: The cytogenetic study of four
 treefrog species from Yunnan



a,b,c: 黑点泛树蛙(*Polypedates nigropunctatus*);

d,e,f: 峨眉泛树蛙(*P. omeimontis*);

j,k,l: 无声囊泛树蛙(*P. mutus*);

g,h,i: 棕褶树蛙(*Rhacophorus feae*).